مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۴، سال ۱۳۹۵

# تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های هندوانه (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*) بر اساس صفات مورفولوژیک و نشانگرهای ریزماهواره(ISSR)

# Genetic Diversity of some Populations of Watermelon (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*) Based on Morphological Traits and Microsatellite Markers (ISSR)

حسین نهتانی[۱]، اسد معصومی اصل[۲]، کاظم صباغ[۳] و رضا امیری فهلیانی[۴]

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
۳- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۲۵

## چکیده

**نهتانی، ح.، معصومی‌اصل، ا.، صباغ، ک. و امیری فهلیانی، ر. ۱۳۹۵.** تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های هندوانه (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*) بر اساس صفات مورفولوژیک و نشانگرهای ریزماهواره(ISSR). **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۵۲۹- ۵۱۱.**

**به منظور بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های هندوانه بومی ایران،۲۴ جمعیت بومی به همراه یک رقم خارجی (دورگ F-1 شرکت ساکاتا) با استفاده از صفات مورفولوژیک و نشانگرهای ISSR مورد مطالعه قرار گرفتند. برای بررسی تنوع مورفولوژیکی، جمعیت‌ها در مزرعه و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کاشته شده و صفات مورفولوژیک آن‌ها شامل تعداد میوه در بوته، طول بلندترین شاخه، وزن میوه، طول و عرض میوه و ضخامت پوست میوه اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین جمعیت‌ها از نظر تمام صفات مورفولوژیک مورد بررسی اختلاف معنی‌دار وجود داشت. گروه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس صفات مورفولوژیک با استفاده از تجزیه کلاستر، آن‌ها را در چهار گروه مجزا قرار داد. در بررسی تنوع با استفاده از نشانگر مولکولی، ده آغازگر مورد استفاده ۸۷ مکان قابل امتیازبندی تولید کردند که از این تعداد ۷۵ مکان چندشکل بودند. مقادیرPIC برای آغازگرهای مورد استفاده از ۰/۵۲ (آغازگر P4) تا ۰/۹۱ (آغازگر UBC864) متغیر بوده و میانگین آن ۰/۸۳ برآورد شد. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش UPGMA مبتنی بر ضرایب تشابه ژنتیکی جاکارد، جمعیت‌ها را در هفت گروه قرار داد. کمترین و بیشترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های کردستان و کرمانشاه و جمعیت‌های مازندران و خراسان بود. نتایج این پژوهش نشان داد که نشانگرهای ISSR به طور مؤثری می‌توانند برای مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های هندوانه بومی ایران استفاده شوند و از میان آغازگرهای استفاده شده، UBC864 و UBC823 مناسب‌ترین آغازگرها برای مطالعات بعدی تشخیص داده شدند.**

**واژه‌های کلیدی: هندوانه، جمعیت‌ها، تنوع ژنتیکی،نشانگرهای ISSR.**

---

نویسنده مسئول: masoumiasl@yu.ac.ir تلفن: ۰۷۴۳۳۲۲۴۸۴۰

**مقدمه**

هندوانه *Citrullus lanatus* var. *lanatus* (2n = 2x = 22) متعلق به تیره کدوئیان بوده و تنها گونه زراعی این جنس است (Levi *et al.*, 2002 ؛Bisognin, 2002)، خاستگاه هندوانه از منطقه جنوب آفریقا است (Gichimu *et al.*, 2009) و درحال حاضر هندوانه در سراسر جهان به عنوان یک صیفی با ارزش کشت می‌شود. علاوه بر این، در چین ارقامی به عنوان دانه آجیلی اصلاح و کشت می‌شوند (Hashizume *et al.*, 2003). اندونزی جایگاه اول تولید جهانی هندوانه را دارد و ایران و عراق در مراتب بعدی قرار دارند (Anonymous, 2013a). عملکرد تولید این محصول در ایران باسطح کشت ۱۴۳/۴ هزار هکتار، ۲۵/۵ تن در هکتار برآورد شده است (Anonymous, 2013b). گونه‌ها و رقم‌های مختلف هندوانه در آغاز رشد خیلی شبیه هم بوده ولی تنوع زیادی برای شکل میوه و دیگر صفات از خود نشان می‌دهند (Narouei-Rad *et al.*, 2010). تنوع گسترده فنوتیپی از نظر کیفیت میوه (شکل و اندازه، رنگ پوست و گوشت، عطر و بو، طعم و ترکیب موادمغذی) در میان ارقام هندوانه وجود دارد (Levi *et al.*, 2008)،از این‌رو انجام برنامه‌های به‌نژادی به منظور تولید یک رقم جدید، از نظر تولید و تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده ضروری به نظر می‌رسد (Narouei-Rad *et al.*, 2010). با این حال، هر چند که ارزیابی‌های ژنتیکی آن همانند محصولات مهمی مثل خیار و خربزه انجام شده ولی اطلاعات ژنتیکی بیشتری برای بهبود ژنتیکی این محصول مورد نیاز است (Zhang *et al.*, 1994). مطالعه تنوع ژنتیکی نه تنها برای سازمان‌دهی و حفاظت مواد گیاهی، بلکه در جهت استفاده از پدیده هتروزیس و تولید بذرهای دورگ اهمیت دارد (Fabriki-Ourang *et al.*, 2009).

نشانگرهای مورفولوژیک، از ساده‌ترین نشانگرها هستند که بدون استفاده از روش‌های بیوشیمیایی یا مولکولی ارزیابی می‌شوند (Kumar, 1999). غالبیت و عدم تظاهر در مراحل اولیه رشد، آثار پلیوتروپیک، تأثیرپذیری از محیط، اپیستازی، کم بودن چندشکلی و تعداد کم آن‌ها از خصوصیات نامطلوب این نوع نشانگرهاست که استفاده از آن‌هارا محدود کرده است (Ghareyazie, 1997؛ Abdemishani *et al.*, 1997).

از آیزوزایم‌ها برای تعیین تنوع ژنتیکی و فیلوژنتیکی و نسبت خویشاوندی ارقام هندوانه استفاده شده است ولی در این نوع تحقیق‌ها باندهای مونومورفیک و نیز تنوع ژنتیکی محدودی مشاهده شده است (Levi and Thomas, 1999). در مطالعه‌ای با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD نشان داده شد که این نشانگر، نسبت به آیزوزایم‌ها چندشکلی بهتری برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی در

هندوانـه‌هـای *C. lanatus* var. *lanatus* و *C. lanatus* var. *citroides* و *C. colocynthis* نشـــان مـــی‌دهـــد (Levi *et al*., 2001). در مطالعه تنوع ژنتیکی هشـت تـوده هندوانـه‌هـای بـومی زیمبـاوه (*C. lanatus* var. *lanatus*) و پـنج تـوده *C. lanatus* var. *citroides* بـا نشـانگرهای RAPD (ده پرایمـــر) و SSR (نـــه پرایمـــر)، موجـاجو و همکـاران (Mujaju *et al*., 2010) نشان دادند که نشانگر RAPD بهتر از SSR قادر بـه تفکیـک تـوده‌هاسـت. سـولماز و همکـاران (Solmaz *et al*., 2010) نیـز از مجموعـه ۳۰۳ تـوده جمـع‌آوری شـده از منـاطق مختلـف جغرافیـایی ترکیـه، ۵۶ تـوده را انتخـاب و بـا ۳۵ آغـازگر RAPD، ۲۲ آغـازگر تولیـد بانـد کردند. تجزیه و تحلیل داده‌ها، متوسط ضـریب تنوع ژنتیکی ۰/۹۴ را نشان داد که تنوع ژنتیکـی کـم هندوانـه‌هـای ترکیـه را نشـان مـی‌دهـد. گـــویرا- ســـانز (Guerra-Sanz, 2002) از نشانگرهای SSR در بررسی تنوع ارقام هندوانـه استفاده و ۱۸ جایگاه چندشکلی SSR پیدا کـرد که چندشکلی خوبی در آن‌ها مشاهده شد. لـوی و همکـاران (Levi *et al*., 2004) نیـز بـرای بررســـی ارقـــام بـــومی هندوانـــه آمریکـــا بـــا تنـــوع ژنتیکـــی محـــدود، از نشـــانگرهای ISSR و AFLP استفاده کردنـد و نتـایج آن‌هـا نشان‌دهنده ۸۰/۲ تا ۹۷/۸ درصد شباهت ژنتیکی بین ارقام بومی هندوانه بود.

نشانگرهای ISSR، از نشانگرهایی هستند که در مطالعـات تنـوع ژنتیکـی موجـودات زنـده از جمله گیاهان کاربرد دارند. از نشـانگر ISSR در بررسی تنوع در گونه‌های گیاهی کـه اطلاعـاتی در مورد توالی آن‌ها در دسترس نیست، اسـتفاده می‌شود (Bihamta *et al.,* 2009). نشـانگرهای ISSR مبتنی بر استفاده از توالی‌های ریزمـاهواره بوده و نیازی به اطلاعات در مورد توالی ژنـومی جهت طراحـی آغـازگر ندارنـد. نوکلئوتیـدهای لنگـــر از اتصـــال آغـــازگر در داخـــل تـــوالی ریزماهواره در نقاط مختلف جلـوگیری کـرده و تعداد مکان‌های ژنـومی تکثیـری را مـی‌تـوان بـا تغییر تعداد و نوع نوکلئوتیدهای لنگـر تغییـر داد (Azizi *et al*., 2012).نشـانگرهای ISSR در شناســـایی و مطالعـــه تنـــوع ژنتیکـــی گونـــه‌هـــای مختلـــف گیـــاهیماننـــد خربـــزه (Fabriki-Ourang *et al*., 2009)، گنـدم نـان (Dashchi *et al*., 2012)، گنـــدم دوروم (Alvandi *et al*., 2015)، انگـــــور (Karimi Shahri *et al*., 2012) و یونجـه زراعـی (Azizi *et al*., 2012) اسـتفاده شـده است. در مطالعه تنوع ژنتیکی ۵۴ تـوده ملـون از سراسـراروپا بـا اسـتفاده از نشـانگرهای ISSR و RAPD چندشکلی بالایی گزارش شد. بر اساس این مطالعه، برای صفات مرتبط بـا تجمـع قنـد و فعالیت آنزیم اینورتاز چندشکلی بالایی مشاهده شـد (Stepansky *et al*., 1999). در بررسـی تنوع ژنتیکی ۵۴ جمعیت خربزه و طـالبی کشـور با کمک یازده آغازگر ISSR، تعـداد ۸۴ مکـان ژنـــی امتیازبنـــدی و از ایـــن تعـــداد ۶۳ مکـــان

چندشکلی نشان دادند. میانگین فاصله ژنتیکی میان توده‌ها ۰/۷۴ و میانگین محتوای اطلاعات چندشکل ۰/۸۴ گزارش شد. نتایج به دست آمده حاکی از این بود که نشانگر ISSR برای مطالعات تنوع ژنتیکی خربزه و طالبی موثر است (Fabriki-Ourang *et al*., 2008). لوی و همکاران (Levi *et al*., 2005) در مطالعه تنوع ژنتیکی گونه‌های ختلف جنس Citrullus با کمک نشانگرهای RAPD و ISSR، تنوع موجود و قرابت ژنتیکی گونه‌ها و زیرگونه‌های این جنس را به خوبی نشان دادند. در پژوهش دیگری، تنوع ژنتیکی بین ۴۲ رقم هندوانه زراعی کشور امریکا با استفاده از نشانگرهای ISSR و AFLP مطالعه شد و نتایج نشان داد که دو نشانگر مذکور کارایی بالایی در بررسی تنوع ژنتیکی هندوانه دارند (Levi *et al*., 2004).

با توجه به اهمیت هندوانه در بین محصولات کشاورزی ایران و عدم وجود اطلاعات کافی از ساختار ژنتیکی ارقام مورد استفاده و همچنین عدم بررسی تنوع ژنتیکی هندوانه‌های بومی ایران به وسیله نشانگر ISSR، در این تحقیق تنوع ژنتیکی ارقام بومی جمع‌آوری شده از بیست استان کشور مورد ارزیابی قرار گرفت و فاصله ژنتیکی مناسب برای تولید ارقام ساختگی و دورگ به دست آمد.

## مواد و روش‌ها

بیست و پنج جمعیت هندوانه بومی ایران از بیست استان، شامل ۱۹ جمعیت که از بانک ژن مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج دریافت شد، پنج رقم هندوانه بومی منطقه سیستان (تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سیستان) و یک رقم دورگ F-1 شرکت ساکاتا بود که در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل در کرت هایی با ابعاد ۶×۵ مترمربع، هر تیمار شامل دو ردیف به طول ۵ متر، فواصل خطوط ۳ متر، فاصله کپه‌ها روی خط ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین هر تکرار ۲ متر به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکراراز هر جمعیت کاشته شدند.

برای ارزیابی تنوع مورفولوژیک، در دوره رشدی گیاه صفاتی ارزیابی شدند که برخی از آن‌ها در طول دوره رشد گیاه در مزرعه و برخی دیگر پس از برداشت محصول بود. در شرایط مزرعه‌ای علی‌رغم تکرار کاشت، هشت جمعیت سبز نشدند و لذا بررسی صفات مورفولوژیک روی هفده جمعیت انجام شد. صفات تعداد میوه در بوته، طول بوته، وزن میوه، طول و عرض میوه و ضخامت پوست میوه اندازه‌گیری و ثبت شدند.

پس از جمع‌آوری کلیه داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و SAS تجزیه و تحلیل‌های آماری انجام شد. مقایسه میانگین‌ها در این بخش به روش LSD انجام و تجزیه خوشه‌ای برای گروه‌بندی جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس صفات مورفولوژیک و به روش وارد

(Ward) انجام شد.

برای بررسی تنوع با استفاده از نشانگر مولکولی، بذرها ابتدا با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد ضدعفونی سطحی و سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند.بذرها سپس به تشتک‌های پتری با رطوبت کافی برای جوانه‌زنی منتقل و در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از ۵ روز به گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک استریل منتقل شدند. پس از رشد گیاهچه‌ها در گلخانه (۲۰/۲۶ درجه سانتی‌گراد روز/شب)، در مرحله سه تا چهار برگی از برگ‌های سالم و سبز آن‌ها نمونه‌برداری انجام شد و نمونه‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA ژنومی از برگ‌های جوان به روش لوی و همکاران (Levi *et al*., 2001؛ Levi and Thomas, 1999) با کمی تغییر انجام شد. کیفیت و کمیت DNAژنومی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتریوژل آگارز یک درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

از ده آغازگر ساخته شده توسط شرکت World Meridian کره جنوبی بر اساس مطالعات لوی و همکاران (Levi *et al.*, 2004) و استپانسکی و همکاران (Stepansky *et al*., 1999) برای بررسی تنوع ژنتیکی ارقام استفاده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) جهت تکثیر قطعات DNA در یک محلول واکنش با حجم نهایی ۲۵ میکرولیترحاوی ۱۲/۵ میکرولیتر بافر Master MIX (شرکت سیناژن، ایران)، یک میکرولیتر آغازگر و DNA ژنومی رقیق شده با غلظت ۱۵ نانوگرم انجام شد. به منظور بررسی تکرارپذیری باندها، هر واکنش PCR دو مرتبه تکرار شد. برای تکثیر قطعات DNA از دستگاه PCR مدلMastercycler ep gradient (شرکت اپندورف، آلمان) استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با واسرشت‌سازی اولیه DNA ژنومی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه و با ۳۵ چرخه شامل دمای ۹۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه برای واسرشت‌سازی، اتصال آغازگرها به رشته الگو به مدت ۷۰ ثانیه (دمای اتصال آغازگرها ۵۰ تا ۵۹ درجه سانتی‌گراد متناسب با آغازگر متغیر بود)، گسترش رشته جدید به مدت ۷۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه بود. تفکیک محصولات تکثیری با استفاده از ژل آگارز ۱/۴ درصد و بافر TBE نیم برابر با ولتاژ ۷۰ با زمان ۱۱۰ دقیقه انجام شد. رنگ‌آمیزی ژل با محلول اتیدیوم بروماید به مدت نیم ساعت در دمای اتاق انجام و پس از شستشوی ژل در آب مقطر به مدت ۱۵ دقیقه، از آن عکس‌برداری شد.

قطعات DNA تکثیر شده براساس همردیفی باندها و به صورت صفر (عدم حضور باند) و یک (حضور باند) امتیازبندی و با استفاده از آزمون منتل، از ضریب تشابه جاکارد (Jaccard, 1908) برای محاسبه تشابه بین هر

یک از زوج‌های ژنوتیپی استفاده شد. برای انتخاب بهترین خوشه‌بندی از تست کوفنتیک استفاده و فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش UPGMA و با نرم‌افزار NTSYS pc 2.02 محاسبه و ارتباط جمعیت‌ها با استفاده از دندروگرام نشان داده شد. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC: Polymorphism Information Content) با استفاده از فرمول $PIC = 1-\sum Pi^2$ (Stansfield, 1991) و شاخص نشانگری (Marker Index = MI) با استفاده از فرمول $MI = PIC \times EMR$ برای هر آغازگر محاسبه شد، در این رابطه، EMR (Effective Multiple Ratio) نسبت چندگانه موثر است که بیانگر تعداد جایگاه‌های ژنی چندشکل موجود در یک ژنوتیپ است و از رابطه $EMR = np+\beta$ محاسبه می‌شود. در این رابطه، np تعداد کل جایگاه‌های ژنی چندشکل و $\beta$ از رابطه $\beta = np/(np+nnp)$ به‌دست می‌آید. np تعداد باندهای چندشکل و nnp تعداد باندهای یک شکل هستند (Powell *et al*., 1996).

## نتایج و بحث

نام جمعیت‌های بومی هندوانه ایران و منشاء آن‌ها در جدول ۱ و مشخصات آغازگرهای استفاده شده برای تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها در جدول ۲ نشان داده شده‌اند.

بر اساس آمار توصیفی محاسبه شده (جدول ۳)، بیشترین واریانس ژنتیکی مربوط به صفت طول میوه و کمترین واریانس ژنتیکی مربوط به ضخامت پوست بود. طول میوه دارای بیشترین مقدار ضریب تغییرات ژنتیکی و طول بلندترین شاخه دارای کمترین ضریب تغییرات ژنتیکی بود. بیشترین و کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی نیز مربوط به صفت طول بلندترین شاخه بود. وجود چنین تغییرات کمی برای اکثر صفات از نظر دامنه تغییرات، نشان دهنده تنوع کم در جمعیت‌های مورد بررسی است. ناروئی‌راد و همکاران (۲۰۱۰) از صفات مورفولوژیک برای بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های محلی هندوانه سیستان استفاده کردند، نتایج آن‌ها نشان داد که در مورد همه صفات ضریب تنوع فنوتیپی از ضریب تنوع ژنتیکی بیشتر بوده که نشان‌دهنده تاثیر عوامل محیطی بر صفات مورد بررسی است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴)، از نظر صفات مورفولوژیک بین جمعیت‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت که حاکی از تنوع ژنتیکی بالا بین جمعیت‌ها بود. در این تحقیق به جز جمعیت‌هایی که از منطقه سیستان جمع‌آوری شده بودند در مورد سایر جمعیت‌ها فقط یک نماینده از هر منطقه وجود داشت لذا امکان بررسی تنوع درون جمعیتی وجود نداشت و فقط تنوع بین جمعیتی بررسی شد.

نتایج مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین

جدول ۱- نام و منشاء جمعیت‌های بومی هندوانه ایران

Table 1. Name and origin of Iranian native watermelon populations

| شماره جمعیت Population No. | منشاء Origin | کد یا نام Code or Name | شماره جمعیت Population No. | منشاء Origin | کد یا نام Code or Name |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | France | F1-hybrid Sakata | 14 | Guilan | TN-93-468 |
| 2 | Sistan | Post-sefid | 15 | Lorestan | TN-93-526 |
| 3 | Sistan | Chitak-Deraz | 16 | Chaharmahall va Bakhtari | TN-93-584 |
| 4 | Sistan | Chitak-Khakestari | 17 | East Azarbayjane | TN-93-586 |
| 5 | Sistan | MollaAli | 18 | West Azarbayjane | TN-93-602 |
| 6 | Sistan | MollaAli-2 | 19 | Bushehr | TN-93-634 |
| 7 | Hamadan | TN-93-306 | 20 | Khorasan | TN-93-642 |
| 8 | Fars | TN-93-313 | 21 | lIsfahan | TN-93-767 |
| 9 | Kordestan | TN-93-333 | 22 | Kerman | TN-93-779 |
| 10 | Yazd | TN-93-335 | 23 | Semnan | TN-93-789 |
| 11 | Markazi | TN-93-391 | 24 | Kermanshah | TN-93-804 |
| 12 | Golestan | TN-93-428 | 25 | Ilam | Ke 359242 |
| 13 | Mazandaran | TN-93-452 | | | |

جدول ۲- آغازگرهای مورد استفاده برای تعیین تنوع ژنتیکی جمعیت‌های هندوانه

Table 2. The primers used for determination of genetic diversity in watermelon populations

| نام آغازگر Name of primer | توالی آغازگر (5´ → 3´) Primer sequence | دمای اتصال Annealing temperature |
|---|---|---|
| UBC - 808 | AGAGAGAGAGAGAGAGC | 57 |
| UBC – 809 | GAGGAGAGAGAGAGAGG | 55 |
| UBC - 810 | GAGAGAGAGAGAGAGAT | 50 |
| UBC - 823 | TCTCTCTCTCTCTCTCC | 52 |
| UBC – 825 | ACACACACACACACACT | 55 |
| UBC - 826 | ACACACACACACACACC | 59 |
| UBC - 864 | ATGATGATGATGATGATG | 52 |
| UBC - 889 | AGTCGTAGTACACACACACACAC | 59 |
| P2 | AGAGAGAGAGAGAGAGT | 50 |
| P4 | ACACACACACACACACG | 53 |

جدول ۳- آمار توصیفی صفات مورفولوژیک در جمعیت‌های بومی هندوانه ایران

Table 3. Descriptive statistics of morphological traits in Iranian native watermelon populations

| Trait | صفات | وزن میوه Fruit weight | طول میوه Fruit height | عرض میوه Fruit diameter | ضخامت پوست Rind thickness | طول بلندترین شاخه The tallest branch | تعداد میوه Fruit number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Environment variance | واریانس محیطی | 0.10 | 8.45 | 14.50 | 0.01 | 0.02 | 0.20 |
| Genetic variance | وارایانس ژنتیکی | 17.03 | 60.70 | 21.30 | 0.12 | 0.37 | 0.36 |
| Phenotypic variance | واریانس فنوتیپی | 17.07 | 61.40 | 34.50 | 0.13 | 0.38 | 0.38 |
| General heritability | وراثت پذیری عمومی | 1.00 | 0.99 | 0.62 | 0.92 | 0.97 | 0.96 |
| Coefficient of genetic variance | ضریب تنوع ژنتیکی | 3.01 | 0.49 | 0.39 | 0.38 | 0.27 | 0.36 |
| Coefficient of phenotypic variance | ضریب تنوع فنوتیپی | 3.02 | 0.50 | 0.49 | 0.40 | 0.27 | 0.37 |

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک در جمعیت‌های بومی هندوانه ایران

Table 4. Analysis of variance for morphological traits in Iranina native watermelon populations

| S.O.V. | منابع تغییرات | درجه آزادی df. | وزن میوه Fruit weight | طول میوه Fruit height | عرض میوه Fruit diameter | ضخامت پوست Rind thickness | طول بلندترین شاخه The tallest ranch | تعداد میوه Fruit number |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Block | بلوک | 2 | 0.23$^{ns}$ | 10.70$^{ns}$ | 52.2$^{*}$ | 0.02$^{ns}$ | 0.02$^{ns}$ | 0.07$^{ns}$ |
| Population | جمعیت | 16 | 51.20$^{**}$ | 191.00$^{**}$ | 78.5$^{**}$ | 0.37$^{**}$ | 1.13$^{**}$ | 1.29$^{**}$ |
| Error | خطا | 32 | 0.10 | 8.45 | 14.5 | 0.01 | 0.01 | 0.02 |
| CV % | درصد ضریب تغییرات | | 22.00 | 17.00 | 23.00 | 17.00 | 14.00 | 27.00 |

ns و *،**: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌داری درسطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns, * and ** :Not significant,significantat 1% and 5% probability levels, respectively.

میانگین وزن میوه متعلق به جمعیت‌های پوست سفید و چیتک خاکستری و کمترین مقدار آن متعلق به جمعیت‌های همدان و فارس بود. جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مناطق سرد (مثل همدان، کردستان، آذربایجان شرقی و حتی استان‌های شمالی کشور) گرمای خشک زابل را تحمل نکرده و در نتیجه رشد و تولید ضعیفی داشتند و از این‌رو کمترین وزن میوه را نیز داشتند. جمعیت‌های جمع‌آوری شده از منطقه سیستان از نظر وزن میوه نسبت به بقیه جمعیت‌ها برتری نشان دادند (جدول ۵).

جمعیت‌های چیتک دراز، چیتک خاکستری و پوست سفید بیشترین طول و جمعیت‌های همدان، فارس و گلستان کمترین طول میوه را داشتند. برای صفات عرض میوه، جمعیت‌های پوست سفید، ملاعلی۲ و چهار محال و بختیاری بیشترین و جمعیت‌های همدان، فارس و گلستان کمترین میانگین را داشتند. جمعیت چیتک دراز بیشترین ضخامت پوستو جمعیت‌های همدان، فارس و کردستان کمترین ضخامت پوست را داشتند (جدول ۵).

ضخامت پوست جمعیت‌های سیستان بیشتراز سایر جمعیت‌ها بود که ماندگاری بالای آن‌ها را توجیه می‌کند. بیشترین طول بوته مربوط به رقم تجاری ساکاتا بود. چون این رقم اصلاح شده و تجاری است برتری آن در برخی صفات مورد انتظار بود، ولی در مجموع نتوانست در منطقه سیستان برتری خود را نشان دهد و احتمالاً این رقم برای مناطقی مثل سیستان مناسب نیست. حتی از نظر صفت طول بوته نیز اختلاف این رقم با جمعیت‌های منطقه سیستان معنی‌دار نبود. تعداد میوه در بوته نیز در جمعیت‌های سیستان بیشتر از بقیه جمعیت‌ها بود ولی با اینحال اختلاف معنی‌داری با رقم ساکاتا نداشت (جدول ۵).

هو و همکاران (Huh *et al*., 2008) در مطالعه هندوانه‌های بومی کره جنوبی و ترکیه نشان دادند که در جمعیت‌های مختلف، صفات وزن میوه، طول میوه و عرض میوه اختلاف معنی‌دار داشتند. ناروئی‌راد و همکاران (۲۰۱۰) نیز از صفات مورفولوژیک برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های محلی هندوانه سیستان استفاده کردند و نتایج آن‌ها نیز نشان داد ارقام و جمعیت‌ها از نظر صفات طول میوه و عرض میوه اختلاف معنی‌داری داشتند. نتایج تحقیق ملدنویچ و همکاران (Mladenovic *et al*., 2008) روی کلکسیون ژرم‌پلاسم هندوانه صربستان نیز معنی‌دار بودن اختلاف صفات وزن میوه، طول میوه و عرض میوه و عدم معنی‌داری اختلاف ها جمعیت‌ها در صفت طول بوته را نشان داد.

نمودار درختی تجزیه خوشه‌ای حاصل از داده‌های مورفولوژیک برای هفده جمعیت مورد بررسی در شکل ۱ آورده شده است. بر این اساس، جمعیت‌های مورد مطالعه به چهار گروه جداگانه تقسیم شدند برای تعیین تعداد واقعی گروه‌ها و نقطه برش، از آزمون $T^2$ هتلینگ کاذب استفاده شد (Farshadfar, 1998) که در

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک در جمعیت‌های بومی هندوانه ایران

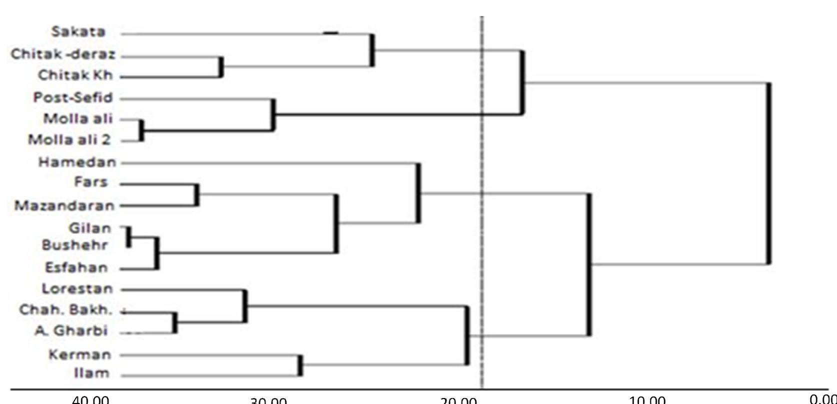
Table 5. Mean comparison of morphological traits in Iranian native watermelon populations

| جمعیت<br>Population | وزن میوه<br>Fruit weight (kg) | طول میوه<br>Fruit height (cm) | عرض میوه<br>Fruit diameter (cm) | ضخامت پوست<br>Rind thickness (cm) | طول بلندترین شاخه<br>The tallest branch (m) | تعداد میوه<br>Fruit number |
|---|---|---|---|---|---|---|
| F1 hybrid Sakata | 1.60b | 19.6bc | 11.0b-e | 1.0e | 3.1a | 2.0abc |
| Post-sefid | 3.00a | 26.0ab | 22.0a | 0.8f | 3.0a | 2.6a |
| Chitak-Deraz | 2.90a | 29.6a | 15.0a-d | 1.7a | 3.0a | 2.3ab |
| Chitak-Khakestari | 3.00a | 28.3a | 10.8b-e | 1.5b | 3.0a | 2.6a |
| MollaAli | 2.50abc | 17.6cde | 17.0abc | 1.2d | 2.5b | 2.6a |
| MollaAli-2 | 2.60ab | 21.6bc | 18.6ab | 1.3c | 2.8ab | 2.3ab |
| TN-93-306 | 0.12d | 5.3g | 4.0e | 0.5h | 1.8c | 1.0c |
| TN-93-313 | 0.15d | 6.1fg | 5.6e | 0.5h | 1.8c | 1.0c |
| TN-93-333 | 0.60cd | 7.6fg | 6.5de | 0.5h | 1.5c | 1.3c |
| TN-93-335 | 0.70cd | 10.6fg | 10.3b-e | 0.7g | 1.7c | 1.6abc |
| TN-93-391 | 1.10bc | 23.3abc | 14.5a-d | 1.0e | 1.8c | 1.0c |
| TN-93-428 | 0.76cd | 7.1fg | 5.3e | 1.0e | 1.8c | 1.0c |
| TN-93-452 | 0.75cd | 12.6def | 11.5b-e | 0.7g | 1.5c | 1.6abc |
| TN-93-468 | 0.60cd | 10.6fg | 11.0b-e | 0.7g | 1.6c | 1.3c |
| TN-93-526 | 0.64cd | 10.1fg | 9.0cde | 1.0e | 1.7c | 1.6abc |
| TN-93-584 | 1.50b | 19.0cd | 18.3ab | 0.7g | 2.5b | 1.0c |
| TN-93-586 | 0.70cd | 12.3 ef | 11.8b-e | 0.7g | 2.8ab | 1.0c |
| LSD | 0.68 | 6.5 | 8.5 | 0.09 | 0.37 | 1.0 |

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند (آزمون LSD).

Means with similar letters in each column are not significantly different at 1% level of probability (LSD test).

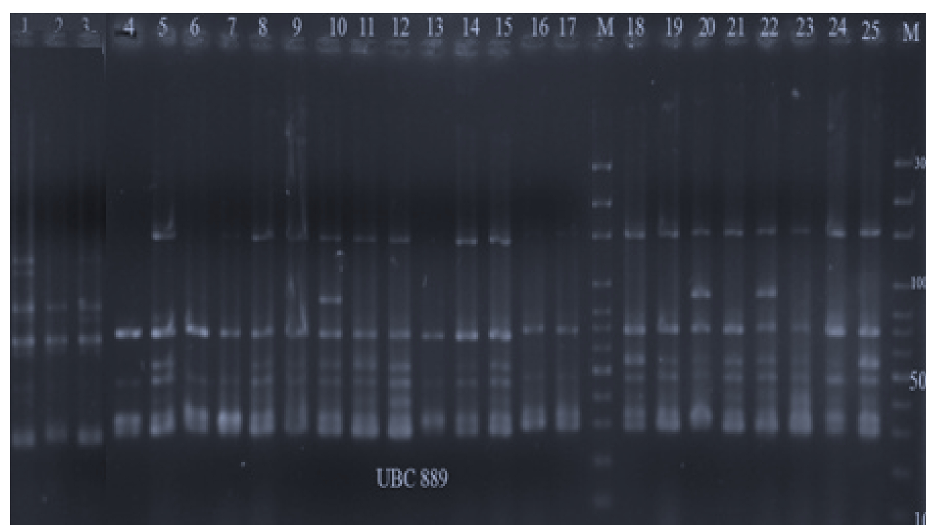
آن رقم دورگ ساکاتا همراه باجمعیت‌های چیتک دراز و چیتک خاکستری (هر دو متعلق به سیستان) در یک گروه قرار گرفتند، یعنی این دو جمعیت سیستانی با رقم دورگ تولیدی شرکت ساکاتا قرابت ژنتیکی دارند و شاید بتوان با انجام برنامه‌های به‌نژادی روی این دو جمعیت به رقم اصلاح شده‌ای مشابه ساکاتا در ایران دست پیدا کرد. جمعیت‌های ملاعلی و ملاعلی۲ نیز که هر دو متعلق به سیستان هستند، در یک گروه مجزا قرار گرفتند. با توجه به وسعت منطقه سیستان احتمالاً محل جمع آوری آن‌ها تفاوت اقلیمی داشته و چون محققین مرکز تحقیقات کشاورزی سیستان نامگذاری آن‌ها را انجام داده‌اند، احتمالاً دلایل کافی برای جدا کردن آن‌ها داشته‌اند. بقیه جمعیت‌ها در گروه‌های بعدی پراکنده بودند. تجزیه خوشه‌ای روش مناسبی برای اندازه‌گیری و تعیین فواصل ژنتیکی، دوری یا ژنتیکی خویشاوندی بین جمعیت‌ها و ارقام است، بنابراین تجزیه خوشه‌ای روش مناسبی برآورد شباهت بین افراد در یک جمعیت نیز هست (Anderberg, 1973). هدف به‌نژادگران گیاهی از دسته‌بندی ارقام و




شکل ۱- نمودار خوشه‌ای ۱۷ جمعیت بومی هندوانه ایران بر اساس صفات مورفولوژیکی به روش Ward
Fig. 1. Dendrogram of 17 assessed Iranian native watermelon populations based on morphological traits using Ward method

ژنوتیپ‌های مختلف یک محصول، پی بردن به فاصله ژنتیکی آن‌ها و استفاده از تنوع موجود در برنامه‌های به‌نژادی است (Johnson and Wichern, 2007). نتایج تحقیق حاضر نیز توانمندی این نوع تجزیه را در گروه‌بندی جمعیت‌ها اثبات کرد چرا که توانست جمعیت‌های منطقه سیستان را از بقیه جمعیت‌ها که متعلق به مناطق دیگر بودند، جدا کند و نیز توانست موقعیت رقم خارجی را در ارتباط با جمعیت‌های بومی مشخص کند. با این گروه بندی بیشترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های ایلام و چیتک دراز به دست آمد که با توجه به موقعیت این دو استان در کشور چنین فاصله ژنتیکی دور از انتظار نیست. گروه‌بندی جمعیت‌ها نشان داد که همه جمعیت های جمع‌آوری شده از منطقه سیستان در دو گروه مجاور هم قرار گرفتند. این جمعیت‌ها از نظر وزن میوه مشابهت داشتند و از نظر صفات طول و عرض میوه هم اختلاف زیادی نداشتند ولی از نظر ضخامت پوست میوه تفاوت آن‌ها معنی‌دار بود. سایر جمعیت‌ها که از استان‌های دیگر جمع‌آوری شده بودند، دردو گروه دیگر قرار گرفتند. مثلاً جمعیت‌های همدان، فارس و مازندران که در یک گروه قرارگرفتند، از نظر صفت وزن میوه و عرض میوه اختلاف معنی‌دار آماری نداشته و در مورد دو صفت دیگر نیز اختلاف آن‌ها زیاد نبود.

در بررسی تنوع با استفاده از نشانگر مولکولی، هر ده آغازگر مورد بررسی الگوی باندی واضح و با تکرارپذیری بالا تولید کرده و بین ارقام چندشکلی نشان دادند (شکل ۲). آغازگرهای استفاده شده، در مجموع توانستند ۸۷ مکان را شناسایی کنند که ۷۵ مکان از آن‌ها چندشکلی نشان دادند. آغازگر UBC864 بیشترین تعداد باند (۱۵ باند) و آغازگر P4 کمترین تعداد باند (۳ باند) را تولید کردند.




شکل ۲- الگوی نواری نشانگر UBC889 در جمعیت‌های بومی هندوانه ایران
M: نشانگر ۱۰۰ جفت بازی

Fig. 2. Banding pattern of UBC889 in Iranian native watermelon populations
Lane M: ladder 100bp

بیشترین و کمترین درصد چندشکلی به ترتیب با استفاده از آغازگرهای UBC823 و P4 ایجاد شد و متوسط تعداد باندهای تولید شده توسط هر آغازگر ۸/۷ باند بود. بالاترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) مربوط به آغازگر UBC864 بود و بعد از آن، آغازگرهای UBC823، UBC810، UBC825 و P2 بیشترین مقدار چندشکلی (PIC) را داشتند (جدول ۶)، این آغازگرها بهتر از آغازگرهای دیگر توانستند فاصله ژنتیکی جمعیت‌هارا مشخص کنند، بنابراین می‌توان از این آغازگرها (UBC864، UBC823، UBC810 و UBC825) برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی مجموعه دیگر ژرم‌پلاسم‌های هندوانه در پژوهش‌های بعدی بهره گرفت. آغازگر P4 با کمترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی، توانائی خوبی برای جداسازی جمعیت‌هانداشت. با توجه به این که مقادیر محتوای اطلاعات چندشکلی از صفر تا یک متغیر است و هر چه این عدد بزرگ‌تر باشد بیانگر فراوانی بیشتر چندشکلی برای آن جایگاه در جمعیت تحت بررسی است و از طرفی محتوای اطلاعات چندشکلی اکثر آغازگرهای مورد استفاده عدد بزرگی بود، لذا این نتایج نشان‌دهنده انتخاب صحیح و کارائی بالای این آغازگرها بود. مقدار شاخص نشانگری آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه بین ۰/۶۹ تا ۱۱/۸۸ متغیر بود طوری که آغازگرهای UBC864 (MI = 11.88)، UBC823 (MI = 9.9)، UBC826 (MI = 7.74) و UBC808 (MI = 7.74) شاخص نشانگری بالاتری را نسبت به سایر آغازگرها نشان دادند (جدول ۶). از شاخص

جدول ۶- درصد چندشکلی، تعداد مکان‌های تکثیر شده چندشکل، محتوای اطلاعات چندشکل و شاخص نشانگری در مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بومی هندوانه ایران

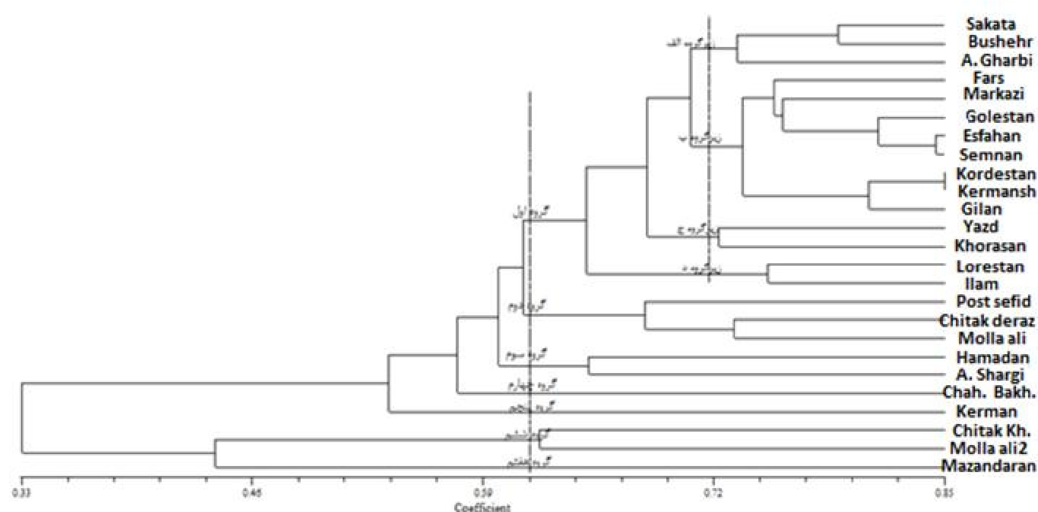
Table 6. Polymorphism percent, number of polymorphic band, polymorphic information content and marker index in evaluation of genetic diversity of Iranian native watermelon populations

| آغازگر<br>Primer | تعدادمکان تکثیر شده<br>Number of polymorphic band | تعدادمکان چند شکل<br>Number of polymorphic band | درصد چند شکلی<br>Polymorphism percent | محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)<br>Polymorphic information content (PIC) | شاخص نشانگری (MI)<br>Marker Index (MI) |
|---|---|---|---|---|---|
| UBC - 808 | 9 | 9 | 100 | 0.86 | 7.74 |
| UBC – 809 | 7 | 5 | 71 | 0.83 | 2.96 |
| UBC - 810 | 8 | 7 | 87 | 0.87 | 5.32 |
| UBC - 823 | 11 | 11 | 100 | 0.90 | 9.90 |
| UBC – 825 | 8 | 6 | 75 | 0.87 | 3.91 |
| UBC - 826 | 9 | 9 | 100 | 0.86 | 7.74 |
| UBC - 864 | 15 | 13 | 86 | 0.91 | 11.88 |
| UBC - 889 | 8 | 6 | 75 | 0.81 | 3.64 |
| P2 | 9 | 6 | 66 | 0.87 | 3.48 |
| P4 | 3 | 2 | 66 | 0.52 | 0.69 |
| مجموع Total | 87 | 74 | | | |
| میانگین Mean | 8.7 | 7.4 | 82.6 | 0.83 | 5.72 |

نشانگری به عنوان معیاری مناسب برای پیشگوئی کارایی نشانگر در یک ژرم‌پلاسم استفاده می‌شود. بنابراین آغازگرهایی که در این مطالعه بالاترین مقدار شاخص نشانگری را داشتند، می‌توانند برای مطالعه ژرم‌پلاسم هندوانه‌های بومی ایرانی در سطح وسیع استفاده شوند. مقدار بالای چندشکلی توده‌های بومی هندوانه بومی ایرانی نشان‌دهنده کارآیی کاربرد این نشانگرها در مطالعه ژرم‌پلاسم هندوانه و از طرف دیگرنشان‌دهنده توزیع جغرافیایی و تنوع ژنتیکی وسیع این گیاه در ایران است. در بررسی تنوع ژنتیکی ۵۴ توده خربزه و طالبی ایرانی جمع‌آوری شده از یازده استان کشور نیز از نشانگرهای ISSR استفاده شده که از مجموع یازده آغازگر مورد استفاده، تعداد ۸۴ مکان ژنی قابل امتیازبندی به دست آمدو از این تعداد ۶۳ مکان چندشکلی نشان دادند (Fabriki-Ourang *et al.*, 2009). همچنین در مطالعه ساختار و تنوع ژنتیکی ۸۰ نمونه از هشت جمعیت مختلف یونجه زراعی که از ۱۶ آغازگر نشانگرهای ISSR استفاده شده بود، ۱۱۷ مکان قابل امتیازبندی ایجاد شد که از این تعداد، ۹۱ مکان در بین و درون جمعیت‌ها چندشکل بودند و میانگین مقادیر محتوای چندشکلی اطلاعات، ۰/۷۷ و از ۰/۶۵ تا ۰/۹۳ متغیر بودند (Azizi *et al.*, 2012). در مطالعه تنوع ژنتیکی هشت توده از هندوانه‌های بومی زیمباوه (*C. lanatus* var. *lanatus*) و پنج توده *C. lanatus* var. *citroides* با نشانگرهای RAPD (ده آغازگر) و SSR (۹ آغازگر)،

موجاجو و همکاران (Mujaju *et al.*, 2010) نشان دادند که نشانگر RAPD بهتر از SSR قادر به تفکیک توده‌هاست. سولماز و همکاران (Solmaz *et al.*, 2010) از مجموعه ۳۰۳ توده جمع‌آوری شده مناطق مختلف جغرافیایی ترکیه، ۵۶ توده را انتخاب و با ۳۵ آغازگر RAPD، ۲۲ آغازگر تولید باند کردند، تجزیه و تحلیل داده‌ها، متوسط ضریب تنوع ژنتیکی ۰/۹۴ را نشان داد و تنوع ژنتیکی کم هندوانه‌های ترکیه را مشخص کردند.با توجه به تحقیقات مذکور،نتایج به دست آمده با نشانگر مورد استفاده در این تحقیق دور از انتظار نیست.

برای گروه‌بندی جمعیت‌هابر اساس داده‌های مولکولی، با استفاده از آزمون کوفنتیک بهترین روش گروه‌بندی روش UPGMA براساس ضریب تشابه جاکارد تشخیص داده شد. خطبرش در دندروگرام از محل فاصله ژنتیکی ۰/۶۱ باعث گروه‌بندی جمعیت‌ها در هفت گروه شد که اکثر آن‌ها در گروه اول قرار گرفتند. برای تعیین تعداد واقعی گروه‌ها و نقطه برش، از آزمون $T^2$ هتلینگ کاذب (شکل ۳) استفاده شد (Farshadfar, 1998).

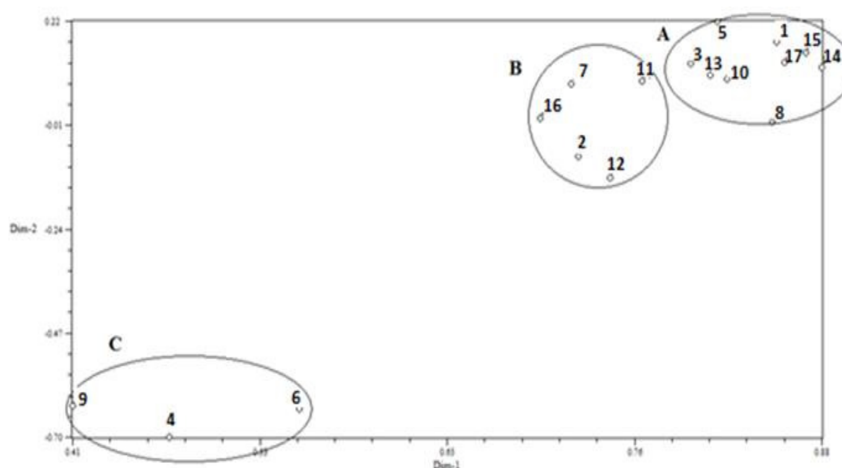



شکل ۳- نمودار خوشه‌ای جمعیت‌های بومی هندوانه ایران با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و بر اساس الگوریتم UPGMA

Fig. 3. Dendrogram theIranian native watermelon populations using Jaccard similarity coefficient based on UPGMA algorithm

با هدف سهولت بررسی، گروه اول از محل فاصله ژنتیکی ۰/۷۲ به چهار زیرگروه «الف» تا «د» تقسیم شد: زیر گروه «الف» شامل جمعیت‌های ساکاتا، بوشهر و آذربایجان غربی و زیر گروه «ب» شامل جمعیت‌های مرکزی، گلستان، اصفهان، سمنان، کردستان، کرمانشاه، گیلان و فارس بود. در زیر گروه «ج» جمعیت‌های یزد و خراسان و در زیر گروه «د»

جمعیت‌های لرستان و ایلام قرار گرفتند. گروه دوم شامل جمعیت‌های پوست سفید، چیتک دراز و ملاعلی بود که هر سه از منطقه سیستان بوده و قرارگرفتن آن‌ها در یک گروه دور از انتظار نبود. در گروه‌بندی جمعیت‌هابر اساس صفات مورفولوژیک نیز این جمعیت‌ها در یک گروه قرار گرفتند. گروه سوم شامل جمعیت‌های همدان و آذربایجان شرقی بود. چهارمحال و بختیاری در گروه چهارم، جمعیت کرمان در گروه پنجم، جمعیت‌های چیتک خاکستری و ملاعلی۲ (هر دو از منطقه سیستان) در گروه شش و مازندران در گروه هفت قرار گرفتند. رقم تجاری ساکاتا کمترین فاصله ژنتیکی را با جمعیت‌های کرمانشاه و بوشهر و بیشترین فاصله ژنتیکی را با جمعیت مازندران داشت. نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی (Principle Coordinate Analysis = PCA) بر اساس داده‌های مولکولی نیز جمعیت‌ها را به سه گروه مجزا تقسیم کرد (Farshadfar, 1998). غیر از رقم پوست سفید از منطقه سیستان، تمام جمعیت‌های خوشه اول دندروگرام فوق در گروه A قرار گرفتند. تجزیه به مختصات اصلی، نتایج تجزیه خوشه‌ای را تا حد زیادی تایید کرد (شکل ۴).




شکل ۴- نمودار دو بعدی روابط ژنتیکی بین جمعیت‌های بومی هندوانه ایران حاصل از تجزیه به مختصات اصلی (شماره‌های ۱ تا ۱۷ به ترتیب: رقم دورگ ساکاتا، جمعیت‌های پوست سفید، چیتک دراز، چیتک خاکستری، ملاعلی، ملاعلی۲، TN-93-306، TN-93-313، TN-93-333، TN-93-335، TN-93-391، TN-93-428، TN-93-452، TN-93-468، TN-93-526، TN-93-584 و TN-93-586 هستند)

Fig. 4. Genetic relationships between Iraniannative watermelon populations obtained from dimensional diagram of the principal coordinates analysis (1-17 No. are F1-hybrid Sakat,Post-sefid,Chitak-Deraz, Chitak-Khakestari, MollaAli, MollaAli-2, TN-93-306, TN-93-313, TN-93-333, TN-93-335, TN-93-391, TN-93-428, TN-93-452, TN-93-468, TN-93-526, TN-93-584 and TN-93-586 populations).

بالا بودن چندشکلی به دست آمده در پژوهش حاضر را می‌توان به کارآیی بالای روش ISSR نسبت به RAPD و آیزوزایم و نشانگرهای مورفولوژیک و وسعت مناطق نمونه‌برداری شده نسبت داد. از آن‌جا که در روش ISSR، آغازگرها مکمل نواحی ریزماهواره‌ای هستند که در یوکاریوت‌ها با فراوانی بالا در سراسر ژنوم پراکنده‌اند، استفاده از این روش می‌تواند سطح بالایی از چندشکلی را نشان دهد (Ghareyazie, 1997). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تنوع ژنتیکی موجود در بین توده‌های بومی هندوانه ایرانی برای انجام برنامه‌های به‌نژادی و دورگ‌گیری جهت افزایش عملکرد، کیفیت و سازگاری بسیار مناسب هستند و در صورت مناسب بودن سایر صفات کمی و کیفی موردنظر، می‌توان از این جمعیت‌ها به عنوان والدین تلاقی در برنامه‌های دورگ‌گیری برای اصلاح جمعیت‌های هندوانه استفاده کرد، طوری‌که از حداکثر هتروزیس موجود، در جهت ایجاد ارقام دارای سازگاری بیشتر با شرایط کشور بهره‌برداری شود.

## سپاسگزاری

تجهیزات این پژوهش توسط پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل فراهم شد که بدین‌وسیله از مسئولین پژوهشکده سپاسگزاری می‌شود. بذرهای هندوانه برای این تحقیق از بانک ژن گیاهی ملی ایران و مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سیستان تهیه شد که از همکاری صمیمانه مسئولین آن‌ها سپاسگزاری می‌شود.

## References

**Abdemishani, S., Eshraghi, H., and Fasihi-Harandi A. 1997.** Polymerase chain reaction and it`s applications in genetics and plant breeding. Proceedings of the 4th Agronomy and Plant Breeding Congress, Isfahan, Iran (in Persian).

**Alvandi, R., Etminan, A., Mohammadi, R., and Shooshtari, L.2015.** Genetic diversity of durum wheat genotypes using agronomic characteristics and molecular markers. Seed and Plant Improvement Journal 31-1 (3): 441-458 (in Persian).

**Anderberg, M. R. 1973**. Cluster Analysis for Applications. Academic Press, New York, USA.

**Anonymous 2013a.** Production Yearbook. Available on: http://www.fao.org

**Anonymous 2013b.** Statistics of Agricultural Crops in 2011. Ministry of Agriculture Jihad, Department of Planning and Economy, Office of Statistics and Information Technology, Tehran, Iran (in Persian).

**Azizi, H., Bernousi, I., Abdollahi Mandoulakani, B., and Darvishzadeh R. 2012.** Study of genetic structure and diversity in cultivated alfalfa populations (*Medicago sativa* L.) using ISSR markers. Journal of Modern Genetics 6(4): 61- 69 (in Persian).

**Bihamta, M. R., Naserian-Khiabani, B., and Zamani, M. J. 2009.** Molecular Markers in Plant Genetics and Biotechnology. University of Tehran Press, Tehran, Iran (in Persian).

**Bisognin, D. A. 2002.** Origin and evolution of cultivated cucurbits. Ciencia Rural, Santamaria 32(51): 715-723.

**Dashchi, S., Abdollahi, B. M., Darvishzade, R., and Bernousi, I. 2012.** Molecular similarity relationships among Iranian bread wheat cultivars and breeding lines using ISSR Marker. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Clojnapoca 40: 254-260.

**Fabriki-Ourang, S., Shams-Bakhsh, M., Jalali Javaran, M., and Ahmadi, J. 2009.** Analysis of genetic diversity of Iranian melons (*Cucumis melon* L.) using ISSR markers. Iranian Biology Journal 22(2): 271- 281 (in Persian).

**Farshadfar, E. 1998.** Application of Biometrical Genetics in Plant Breeding, Vol. 1. Tagh-e- Bostan Press, Kermanshah, Iran (in Persian).

**Ghareyazie, B. 1997.** Application of DNA markers in plant breeding. Key Article in the 4th Agronomy and Plant Breeding Congress, Isfahan, Iran (in Persian).

**Gichimu, B. M., Owuor, B. O., Mwai G. N., and Dida M. M. 2009.** Morphological characterization of some wild and cultivated watermelon (*Citrullus* sp.) accession in Kenya. Arpn. Journal of Agricultural and Biological Science 4: 1990- 6145.

**Guerra-Sanz, J. M. 2002.** Citrullus simple sequence repeats markers from sequence data bases. Molecular Ecology Notes 2: 223- 225.

**Hashizume, T., Shimamoto, I., and Hirai, M. 2003.** Construction of a linkage map and QTL analysis of horticultural traits for watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] using RAPD, RFLP and ISSR Markers. Theoretical and Applied Genetics 106: 779- 785.

**Huh, Y. C., Solmaz, I., and Sari, N. 2008.** Morphological characterization of Korean and Turkish watermelon germplasm. pp. 327-333. In: Itrat, M. (ed.) Proceedings of the XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae. INRA, Avignon, France.

**Jaccard, P. 1908.** Nouvelles recherché sur la distribution florale. Bulletin Societe Vaud.

Sciences Naturates 44: 223-270.

**Johnson, R. A., and Wichern, D. W. 2007.** Applied Multivariate Statistical Analysis, 4th edition: Prentice Hall International, INC, New Jersey, USA.

**Karimi Shahri, M. R., Dehvari, V., Hajian Shahri, M., and Mokhtarian A. 2012.** Genetic diversity of some grapevine cultivars of Khorasan Razavi province based on RAPD and ISSR markers. Seed and Plant Improvement Journal 28-1 (2):159-172 (in Persian).

**Kumar, L. S. 1999.** DNA marker in plant improvement: An overview. Biotechnology Advances 17: 143-182.

**Levi, A., and Thomas, C. E. 1999.** An improved procedure for isolation of high quality DNA from watermelon and melon leaves. Cucurbit Genetics Cooperative Report 22: 41- 42.

**Levi, A., Thomas, C. E., Newman, M., Reddy, O. U. K., Zhang, X., and Xu, Y. 2004.** ISSR and AFLP markers differ among American watermelon cultivars with limited genetic diversity. Journal of the American Society for Horticultural Sciences 129(4): 553-558.

**Levi, A., Thomas, C. E., Simmons, A. M., and Thies, J. 2005.** Analysis based on RAPD and ISSR markers reveals closer similarities among Citrullus and Cucumis species than with *Praecitrullus fistulosus* (stocks) pangalo. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 465-472.

**Levi, A., Thomas, C. E., Wehner, T. C., and Zhandg, X. 2001.** Low genetic diversity indicates the need to broaden the genetic base of cultivated watermelon. HortScience 36 (6): 1096- 1101.

**Levi, A., Wechter, P., and Davis, A. 2008.** EST- PCR markers represent ting watermelon fruit genes are polymorphic among watermelon heirloom cultivars sharing a narrow genetic base. Plant Genetic Resource 7(1): 16-32.

**Mladenovic, E., Berenji, E., Ognjanov, V., Kraljevic-Balalic, M., Ljubojevic, M., and Cukanovic, J. 2008.** Conservation and morphological characterization of bottle gourd for ornamental use. Proceedings of the 46th Croatain and 6th International Symposium on Agriculture, Opatija, Croatia. pp. 550-553.

**Mujaju, C., Sehic, J., Werlemark, G., Garkava-Gstavsson, L., Fatih, M., and Nybom, H. 2010.** Genetic diversity in watermelon (*Citrullus lanatus*) landraces from

Zimbabwe reveald by RAPD and SSR markers. Hereditas 147(4): 142-153.

**Narouei-Rad, M. R., Alladu, M., Ghasemi, A., and Fanaei, R. 2010.** Genetic variation and heritability of local population of Sistan Watermelon. Iranian Journal of Horticultural Science 40(4): 95-103 (in Persian).

**Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., and Rafalski, A. 1996.** The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2: 225-238.

**Stansfield, W. D. 1991.** Theory and Problems in Genetics. McGraw-Hill, New York, USA.

**Stepansky, A., Kovalski, I., Schaffer, A. A., and Prel-Treves, A. 1999.** Variation in sugar levels and invertase activity in mature fruit representing a broad spectrum of *Cucumis melo* genotypes. Genetic Resources and Crop Evolution 46: 53-62.

**Solmaz, I., Sari, N., and Aka-Kacar, Y. 2010.** The genetic characterization of Turkish watermelon (*Citrullus lanatus*) accessions using RAPD markers. Genetic Resources and Crop Evolution 57: 763-771.

**Zhang, X. P., Rhodes, B. B., and Shorupska, H. S.1994.** RAPD molecular markers in watermelon. Cucurbit Genetics Cooperative Report 17: 116-119.